



磁珠法总 RNA 提取试剂盒

1 产品介绍

磁珠法总 RNA 提取试剂盒为客户提供一套从动物组织、植物组织、培养细胞、细菌中纯化高质量、完整总 RNA 的解决方案。该试剂盒采用独特的细胞裂解系统，无需使用苯酚、氯仿等有害物质，采用去污剂充分裂解细胞释放核酸，通过醇介导将核酸结合于纳米磁珠表面，再经过 DNA 酶处理去除基因组 DNA 的污染，最终得到高纯度的总 RNA。单个样品提取一般可在 40 分钟内完成。使用该试剂盒获得的 RNA，纯度高，基本无 DNA 和影响下游应用的杂质残留。

试剂名称	50次	200次
RNA裂解液	10ml	40ml
RNA中和液	20ml	80ml
Magsilica Beads	5ml	20ml
结合液	15ml	60ml
10×DNase I缓冲液	300μl	1.2ml
DNase I	500μl	2ml
洗涤液1	40ml	160ml
洗涤液2	40ml	160ml
无核酸酶水	5ml	20ml

2 注意事项

- 2.1 使用前检查各组分是否出现沉淀。若有，请轻轻摇晃混合均匀，或 37℃ 水浴重新溶解。
- 2.2 DNase I -20℃ 保存，有效期为一年，裂解液 4℃ 保存。
- 2.3 洗涤液 1 和洗涤液 2 使用前请按标签提示分别加无水乙醇，并混合均匀。
- 2.4 戴一次性干净手套和口罩操作，防止皮肤、唾液和实验室用品上存在的 RNase 污染。
- 2.5 使用无菌无 RNase 的塑料制品和 Tip 头。
- 2.6 若使用玻璃器皿须经过 0.1% DEPC 水在 37℃ 下浸泡 12h，然后经过 121℃ 高压灭菌 30min，烘干后使用。
- 2.7 配制相关的试剂必须使用经过 121℃ 高压灭菌的 0.1% DEPC 水。

3 使用流程

3.1 样品预处理

- 1) 必须使用新鲜或超低温冻存的组织。迅速将组织放入无核酸酶的 1.5ml EP 管或匀浆管中，按起始量加入 RNA 裂解液，置冰浴中，用组织匀浆器破碎细胞。按照 20mg 组织量加入 200μl RNA 裂解液比例加入。
- 2) 必须使用新鲜或超低温冻存的组织。迅速将组织投入到已加入液氮的碾钵中进行碾磨，碾磨过程中要不断补充液氮，以防止组织融化，直至组织完全碾磨成粉末状。将碾磨成粉末状的样品迅速转稳到无核酸酶的 1.5ml EP 管中称量，待剩余液氮将要挥发尽时加入裂解液，按照 20mg 组织量加入 200μl RNA 裂解液比例加入。用移液枪反复吹打直到裂解物中无明显块状组织。
- 3) 向裂解物中加入 400μl RNA 中和液，用移液枪混匀。室温放置 3-5min。如果动物组织样品来源比较珍贵，可以选择裂解物加入稀释液后置 70℃ 加热 5min，可以提高 RNA 的得率。
- 4) 室温以 12000rpm 离心速度离心 5min。小心吸取上清液到新的 1.5ml 无核酸酶的 EP 管中，上清体积约 460μl。
- 5) 按如下比例配制 DNase 反应混合液

试剂名称	50次
10×DNase I缓冲液	5μl
DNase I	10μl
无核酸酶水	35μl

3.2 手动法提取

- 1) 加入 230 μ l 结合液, 100 μ l Magsilica Beads, 用移液枪吹打数次以混匀。室温静置结合 5min。
- 2) 将离心管置于磁力架上磁吸 1min, 待磁珠与溶液分离后, 吸弃上清。
- 3) 加入 600 μ l 洗涤液 1, 涡旋混匀 10s, 将离心管置于磁力架上, 磁吸 1min, 待磁珠与溶液分离后, 吸弃上清。
- 4) 加入 50 μ l DNase 反应混合液, 浸没磁珠。室温静置 15min。
- 5) 加入 600 μ l 洗涤液 1, 涡旋混匀 10s, 将离心管置于磁力架上, 磁吸 1min, 待磁珠与溶液分离后, 吸弃上清。
- 6) 加入 600 μ l 洗涤液 2, 涡旋混匀 10s, 将离心管置于磁力架上, 磁吸 1min, 待磁珠与溶液分离后, 吸弃上清。
- 7) 加入 50-200 μ l 无核酸酶水, 枪头吹打混匀, 室温静置 2min, 将离心管置于磁力架上磁吸 1min, 待磁珠与溶液分离后, 将上清转移到干净的离心管中, 即得提取的总 RNA。

3.3 P32 自动化提取

- 1) 将 3.1 中步骤 4) 预处理得到的 460 μ l 上清加入到 96 孔深孔板第 1, 7 列中, 将 10 μ l DNAase 反应混合液加入到 96 孔深孔板第 2, 8 列, 将 96 孔深孔板放入 32 通道自动核酸提取仪的孔板卡槽内。
- 2) 将 8 孔磁棒套放入磁棒卡槽内。
- 3) 运行预设定的程序, 待程序结束后, 取出 96 孔深孔板, 从第 6, 12 列孔位中吸出洗脱液, 保存于新的无菌离心管中, 进行下游实验。如不能及时进行下游试验, RNA 样本短期可保存于 -20°C , 长期可保存于 -80°C 。

步骤	孔位	名称	混合时间	振幅	频率	磁化时间	等待时间	体积	温度	加热时间
1	3	取磁珠	15s	中	中	60s	0	600 μ l	-	0
2	1	结合	300s	中	中	60s	0	700 μ l	-	0
3	2	结合	15s	低	低	60s	900s	100 μ l	-	0
4	3	漂洗	60s	中	中	60s	0	600 μ l	-	0
5	4	漂洗	60s	中	中	60s	0	600 μ l	-	0
6	5	漂洗	60s	中	中	60s	0	600 μ l	-	0
7	6	洗脱	300s	中	中	60s	0	100 μ l	-	0
8	1	弃磁珠	15s	高	快	0	0	700 μ l	-	0

4 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
磁珠法总 RNA 提取试剂盒	BK0032-01	50 次
Total RNA Purification Kit (Magsilica Beads)	BK0032-02	200 次